

Title	ゼブラフィッシュ骨形成においてConnexin43は、脊椎と鰭骨で異なるメカニズムで関与する
Author(s)	三須, 晃裕
Citation	大阪大学, 2016, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.18910/56103">https://doi.org/10.18910/56103</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

## 論文内容の要旨

氏 名 ( 三 須 晃 裕 )

## 論文題名

ゼブラフィッシュ骨形成においてConnexin43は、脊椎と鰭骨で異なるメカニズムで関与する  
(Two functionally different mechanisms of connexin43 in the bone growth of vertebrae and fins in zebrafish)

## 論文内容の要旨

脊椎動物の骨格は体の成長に伴って大型化するが、その過程でも、体格を支える重要な役割を担うために、適切な形に維持し続ける。これには複雑な制御機構が必要と思われるが、成長に伴って骨の形を適切に維持するメカニズムは知られていない。この疑問を解き明かすために、我々は $stoepse1^{dt128d}$  (*stp*)ゼブラフィッシュ変異体に着目した。*stp*変異体は幼生では野生型と見分けがつかないが、成体では脊椎がかなり短くなり、鰭条（鰭の骨）も若干短縮する。X線CT等により骨の形態を観察した結果、*stp*では、椎骨の融合は起こっておらず、個々の椎骨の形が長軸方向にのみ短いことで生じていた。また、短縮は魚が成熟してから徐々に顕著になるため、成長時に特異的な変異である。ポジショナルクローニングにより、アミノ酸変異(W78L)を起こした*cx43*が原因遺伝子であることを明らかになった。*cx43*はゼブラフィッシュ変異体*short fin(sof)*の原因遺伝子としても知られるが、不思議なことに、*sof*は短いヒレを示すが脊椎は正常である。そこで2つの表現型の違いの原因を突き止めるために電気生理解析によりCx43<sup>*stp*</sup>とCx43<sup>*sof*</sup>の機能解析を行った。その結果、Cx43<sup>*stp*</sup>とCx43<sup>*sof*</sup>は共にギャップジャンクション機能の低下を示したが、ヘミチャネル機能はCx43<sup>*stp*</sup>のみで異常な電流上昇が見られた。このことから、ギャップジャンクション活性の低下は鰭条の短縮を、異常に高いヘミチャネル活性は、鰭骨には影響せず、椎骨の短縮化の原因となることが示唆された。

Shape of skeleton is maintained suitably during body growth for supporting body and movement in vertebrate. However, a mechanism which controls bone shape optimally during body growth is still unknown. To elucidate the mechanism, we focused on a zebrafish mutant  $stoepse1^{dt128d}$  (*stp*). *stp* fish had no defect at larval stage but showed short vertebrae and short fin ray segments at adult stage. Positional cloning revealed that *stp* responsible gene is *cx43*, which had an amino acid substitution of 78th tryptophan to leucine. *cx43* is also known as a gene causing *short fin(sof)* mutant which shows short fin ray segments and normal vertebrae. To find a functional difference between Cx43<sup>*stp*</sup> and Cx43<sup>*sof*</sup>, we examined voltage clamp recording. Voltage clamp showed that Cx43<sup>*stp*</sup> and Cx43<sup>*sof*</sup> had low gap junction activity. On the other hand, in hemichannel activity, only Cx43<sup>*stp*</sup> indicated very high current. These data revealed that low gap junction activity caused short fin ray segments: high hemichannel activity caused short vertebrae. Together, this report suggested that hemichannel of Cx43 was involved in bone shape during bone growth.

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 ( 三 須 晃 裕 )	
	(職) 氏 名
論文審査担当者	主 査 生命機能研究科・教授 副 査 生命機能研究科・教授 副 査 生命機能研究科・教授 副 査 生命機能研究科・教授  近藤 滋 月田 早智子 佐々木 洋
論文審査の結果の要旨	
<p>本博士論文の著者は、脊椎動物の骨の形態ができる仕組みを明らかにすることを目的として、ゼブラフィッシュの骨形態に異常を起こす突然変異体stpについて以下の解析を行った。</p> <p>1：変異魚の骨形態の成長に伴う変化をマイクロCTを使って詳細に行い、特に、脊椎骨の堆体が成長に伴って前後軸方向に短くなるが、はいふく軸方向には正常に拡大することを確認した。</p> <p>2：ポジショナルクローニングおよび、TALENによるノックアウトを行い、原因遺伝子がCX43であることを突き止めた。</p> <p>3：CX43には、尾鱗の骨だけが短縮する別アレルが存在する。STPとは明らかに異なる表現型である。この原因を調べるため、電気生理実験を行い、stpアレルはヘミチャンネル機能が異常に亢進していることを発見した。</p> <p>4：以上から、CX43の2つの機能であるギャップジャンクションとヘミチャンネルが、それぞれ、脊椎と尾の骨で別々に関与することが示唆された。これは、骨の成長過程の違い（脊椎は拡大成長するが、尾鱗骨は成長しない）と関係しているかもしれない。</p> <p>以上の結果は、骨の形態形成という現在では情報が少ない分野において重要な知見となることが期待されるものであり、博士取得に値するものと考える。</p>	
近藤 滋	